

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 16, 1978, pp. 85–101

Aktuelle immunchemische Betrachtungen zum Aufbau der Tumorzellmembran

Von P. Hanfland

Institut für Experimentelle Hämatologie und Bluttransfusionswesen (Direktor: Professor Dr. med. H. Egli) der Universität Bonn und

G. Uhlenbruck

Medizinische Universitätsklinik (Direktor: Professor Dr. med. R. Gross) Köln

(Eingegangen am 31. Januar/1. August 1977)

Herrn Prof. Dr. med. Rudolf Gross zum 60. Geburtstag gewidmet

Zusammenfassung: In einer ausführlichen Übersicht werden grundlegende Experimente und Ergebnisse zum Verständnis des Zellmembranaufbaues diskutiert. Besondere Bedeutung wird dabei der topochemischen Organisation der zellmembran-integrierten Glycolipide und Glycoproteine beigemessen, Glycosubstanzen, deren Immunchemie beschrieben wird und welche wesentliche Bestandteile eines Oberflächenrezeptorenmosaiks darstellen. Dieses wiederum unterliegt einer transmembranösen cytoskeletalen Kontrolle, ein Mechanismus, welcher nur durch das moderne Konzept einer „fluid membrane“ erklärt werden kann. Die hier besprochenen Untersuchungen führen hin zur Interpretation von membranologischen Aspekten der Tumorzelle, wie am Einfluß der Zelltransformation auf die Topographie der Plasmamembran demonstriert wird, und was sich auch im Zellcyclus und Zellwachstum widerspiegelt. In diesem Zusammenhang wird ausführlich auf die sogen. tumor-assoziierten Antigene eingegangen, deren Biochemie und Immunologie im Detail erläutert wird. Auf diese Weise werden dann auch Vorstellungen über Tumormunität und Escape-Mechanismen verdeutlicht und anhand von Modellen präzisiert. An einigen Beispielen wird hervorgehoben, warum die Resultate dieser Grundlagenforschung eine gute Basis für die Immunodiagnostik von Tumoren und die Tumorthherapie darstellen.

Topical immunochemical consideration of the structure of the tumour cell membrane

Summary: Fundamental experiments and results in the elucidation of cell membrane structure are reviewed in detail. Special consideration is given to the topochemical organisation and immunochemistry of the glycolipids and glycoproteins that are integrated into the cell membrane, and which form a major component of the surface receptor mosaic. This, in turn, underlies a transmembrane, cytoskeletal control, a mechanism that can only be explained by the modern concept of a fluid membrane. The investigations discussed here provide an interpretation of the behaviour and properties of the membranes of the tumour cell, as observed in the effect of cell transformation on the topography of the plasma membrane, and during the cell cycle and cell growth. In this connection, the so-called tumour associated antigens are discussed fully and their biochemistry and immunology treated in detail. Concepts of tumour immunity and escape mechanisms are then elucidated and defined with the aid of model systems. Using examples, it is shown why the results of this fundamental research form a sound basis for the immunodiagnosis and therapy of tumours.

Einleitung

Die moderne Krebsforschung ist eine so vielseitig verzweigte Wissenschaft, daß es wohl kaum eine medizinische oder naturwissenschaftliche Disziplin gibt, in der

sie nicht tief verwurzelt ist. Während jedoch in den früheren Jahren der Kern der Krebszellen mehr im Vordergrund stand (z. B. Mutationsforschung usw.), oder der Stoffwechsel — man denke an die Arbeiten Warburgs —, hat sich der Schwerpunkt heutiger Tumor-

forschung mehr auf die Oberfläche der Zelle verlagert, ein Vorgang, der sich parallel mit einer Renaissance der Immunbiologie in den letzten Jahren entwickelt hat. Es ist daher begreiflich, daß wir uns mit den Grundlagen der Membranologie auseinandersetzen müssen, um zu einem besseren Verstehen neuerer Vorstellungen über den Aufbau der Tumorzelloberfläche zu gelangen. Denn gerade die Tatsache, daß diese Membran eben anders aufgebaut ist als die der entsprechenden Normalzelle, ja sogar Fremdcharakter besitzen kann, hat sowohl die Immundiagnostik als auch die Immuntherapie der Tumoren außerordentlich stimuliert. Wenn nun im folgenden die membranchemischen Aspekte ausführlich behandelt werden, so soll dennoch betont sein, daß damit – wegen der allzu großen Fülle neuerer Forschungsergebnisse – keinerlei Anspruch auf Vollständigkeit erhoben wird.

Topochemische Organisation der Zelloberfläche

Alle Organellen einer Zelle enthalten als bauliches und funktionelles Grundgerüst Biomembranen, so auch die Zelloberfläche in Form der Plasmamembran. Am besten untersucht ist bisher das Zellhäutchen der roten Blutkörperchen, weil es am leichtesten präparierbar ist. Viele Bauprinzipien lassen sich von ihm auch für die Plasmamembran der anderen Zellen des Säugerorganismus ableiten; sie sind zu einem großen Teil ebenfalls schon für Lympho-, Leuko-, Thrombocyten, Fibrocyten und -blasten, Epithelzellen und viele andere mehr nachgewiesen worden (1, 2, 3).

Matrix aller Biomembranen ist eine Doppelschicht („Bilayer“) aus Lipiden, deren hydrophobe Enden zum Membraninneren parallel zueinander gekehrt sind und deren hydrophile Enden in das wäßrige Milieu des Zellinneren bzw. Zelläußeren hineinragen (molekulare Amphipathie). Die Anordnung erfolgt nach dem thermodynamischen Gesetz, das möglichst niedrige Niveau an freier Energie zu erreichen. Der Bilayer-Nachweis erfolgte durch Differentialkalorimetrie, Röntgenstrukturanalysen und Elektronenmikroskopie.

Außer aus etwa 40% Lipiden bestehen die Plasmamembranen aus etwa 52% Proteinen und 8% Kohlenhydraten, die entweder an Lipid-(Ceramid) oder Protein-Trägermoleküle gebunden sind. Am Aufbau von Membranproteinen kann man Segmente erkennen, die entweder vorwiegend aus hydrophoben oder vorwiegend aus hydrophilen Aminosäuren aufgebaut sind (z. B. (4, 5)). Ihre Segmentfolge ist entweder hydrophil – hydrophob (bimodal) oder hydrophil – hydrophob – hydrophil (trimodal). Ihrer Modalität entsprechend ordnen sie sich in die Membranzmatrix ein, d. h. die hydrophoben Teile assoziieren sich in die hydrophobe Region des Lipidbilayers hinein, während die hydrophilen Segmente nach außen heraus oder in das Zellinnere hineinragen (thermoenergetische Gesetzmäßigkeiten), worüber optische Rotationsdispersionsmessungen und Circularpolarisationsuntersuchungen Aufschlüsse geben konnten (1–3).

Die bimodalen Membranproteine ragen mit ihrem hydrophilen Teil entweder in das Zellinnere oder in die Umgebung der Zelle. Aufschluß über diese Alternative geben Markierungsstudien zuerst mit intakten Zellen, später zusätzlich mit präparierten Plasmamembranen (1, 6). Ebenfalls konnte nachgewiesen werden, daß alle Kohlenhydratstrukturen (in Form von Oligosaccharidketten) exklusiv an der Außenoberfläche der Zellmembran liegen (Asymmetrie) (7–10). Oligosaccharidketten können an Lipide (Glycolipide) oder an Proteine (Glyco-

proteine) gebunden sein. Die Art der Zucker (*D*-Glucose; *D*-Galaktose, *N*-Acetyl-*D*-glucosamin, *N*-Acetyl-*D*-galaktosamin, *D*-Mannose, *L*-Fucose, *N*-Acetyl- und/oder *N*-Glycolyl-neuraminsäure), deren Sequenz sowie die vielfältigen Möglichkeiten der glycosidischen Verknüpfungen (incl. deren Anomerie) erlauben eine schier grenzenlose Vielfalt von Strukturen, die als antigene Determinanten die Spezifität einer Zelle mitprägen.

Die Zelloberflächenoligosaccharide sind an den elementaren und vitalen biologischen Prozessen der Zelle, dem Zellwachstum, der Zellteilung und der Zelladhäsion beteiligt (s. unten). Sie haben Rezeptor-, Kennmarken- und Orientierungsfunktion und repräsentieren sozusagen einen zweidimensionalen Code der jeweiligen Zelle im Gegensatz zum eindimensionalen, linearen, genetischen Code der DNA.

Neben den klassischen bi- oder trimodalen Membranproteinen, also solchen, die mit ihren hydrophoben Segmenten im Lipid-Bilayer fest verankert sind und deshalb integrale Membranproteine genannt werden, gibt es auch solche, denen die bi- oder trimodalen Strukturmerkmale mehr oder weniger fehlen und mittels nicht-kovalenten Bindungen (Wasserstoffbrückenbindungen, elektrostatische und ionische Anziehungskräfte, *London-van-der-Waal*'sche Kräfte, schwache hydrophobe Bindungen) mehr oder weniger fest an die Innen- oder Außenoberflächen der Membranen, speziell vorwiegend an die herausragenden Proteine, assoziiert sind (periphere Membranproteine).

Das ganze Gebilde Plasmamembran ist nun keineswegs starr, sondern in sich dauernden Änderungen durch zweidimensionale laterale Diffusion der Lipidmoleküle (11) und auch einiger (aber nicht aller) Membranproteine (12) unterworfen. Nun ist es keinesfalls so, daß alle Membranproteine (12) als Einzelkomponenten in der Plasmamembran herumschwimmen, sondern daß untereinander enge topographische Beziehungen bestehen, die einerseits die Beweglichkeit der Proteinkomponenten einschränken und andererseits eine Maskierung bestimmter Strukturen bewirken. Der Nachweis der engen Assoziation von Membranproteinen kann durch Quervernetzungsreagentien erbracht werden (13). Auf diese und ähnliche Weise konnten vor allem an der Menschenerythrocytenmembran eine ganze Reihe von Molekülverbänden nachgewiesen werden. Insbesondere das Spectrin (ein myosinähnliches peripheres Erythrocytenmembranprotein an der Innenseite der Membran) (12, 14) ist zusammen mit actinähnlichen Molekülen an Komplexe integraler, trimodaler Membranproteine fest assoziiert, so daß die Beweglichkeit dieser Komplexe in der Membran und der damit verbundenen antigenen Determinanten auf der Membran normalerweise erheblich eingeschränkt ist, und offensichtlich dadurch dem Erythrocyten die typische Form und Festigkeit verliehen wird (15–17).

Auch eine ganze Reihe von Membranglycolipiden gehen offensichtlich eine enge Assoziation mit Membranproteinen ein (18), so daß sie in den Plasmamembranen des Erwachsenen nicht frei beweglich sind.

Solche Membranglycolipide – aber auch antigene Determinanten von Proteinen und Glycoproteinen – können durch Strukturen benachbarter Moleküle ständig verdeckt sein und dementsprechend nicht an Immunreaktionen teilnehmen (19). Die Permanenz solcher topochemischer Beziehungen kann durch die direkte oder indirekte Verankerung beider Nachbarmoleküle an das gleiche innerseits gelegene periphere Membranprotein bedingt sein.

Je nach Reaktivität antigenen Determinanten kann man die entsprechenden Membranantigene einteilen (20) in:

1. direkt zugängliche Antigene,
2. Kryptantigene, d. h. solche, die nach Abbau des gleichen Moleküls durch Glycosidasen oder Proteasen als struktureller Vorstufen- oder Unterbau zum Vorschein kommen,
3. Pseudokryptantigene, d. h. solche Antigene, die nur mit serologischen Hilfsmitteln (Anti-Human-Globulin) beispielsweise an einer Agglutination beteiligt sein

können (Pseudokryptantigene 1. Ordnung) oder solche, die nur reagieren, nachdem deren sterische Hinderung durch andere benachbarte Moleküle durch Protease- oder Glykosidase-Einwirkung aufgehoben worden ist (Pseudokryptantigene 2. Ordnung).

In diesem Zusammenhang muß auf die Einwirkung von Proteasen auf die Zelloberfläche (21) näher eingegangen werden, da sie Verhältnisse schafft, die gewisse Parallelen zu Oberflächen von Tumorzellen und transformierten Zellen aufzeigt (s. unten): verschiedene Proteasen spalten je nach ihrer Spezifität von den integralen Membranproteinen mehr oder weniger weite Areale der verschiedenen äußeren hydrophilen Proteinsegmente ab; dadurch werden

1. antigene (Protein-) Determinanten entfernt,
 - a. durch Entfernung der Neuraminsäure wird die Ladung (Zetapotential) erheblich vermindert – die Zellen stoßen sich weniger ab
 - b. dementsprechend werden Antigene (Oligosaccharid-) Determinanten entfernt,
3. neue antigene Determinanten (Pseudokryptantigene) kommen zum Vorschein,
4. die Zellen verändern ihre Form; Erythrocyten beispielsweise werden rundlich; dies ist offensichtlich durch eine transmembranöse Dissoziation von Spectrin und den sonst assoziierten integralen Membranproteinen bewirkt worden,
5. die integralen Membrankomponenten erhalten dadurch eine größere Beweglichkeit und dadurch Reaktivität (22–24).

Letzteres macht sich bei einigen Antigenen bei auch vorher vorhandener Accessibilität von z. B. Lectinen jetzt nicht einfach durch eine vermehrte Manifestation vorher verdeckter Bindungsstellen bemerkbar. Die vorher durch eine zu geringe Antigendichte ausgeschlossene Agglutination mit anderen Zellen wird jetzt dadurch ermöglicht, daß die nunmehr frei im Lipid-Bilayer diffundierenden Antigene zu dichten Büscheln zusammendifundieren können und durch Vielfach-Brückenbildung über spezifische Lectine oder IgG-Antikörper mit den gleichen Antigenen der gegenüberliegenden Zellen reagieren. Die Proteasewirkung auf die Antigenität der Zelloberfläche soll Abbildung 1 veranschaulichen (2).

Wie bereits erwähnt, ist der Aufbau der Biomembranen kernhaltiger Zellen mit dem der Erythrocytenmembran prinzipiell weitgehend identisch. Der Hauptunterschied zur Erythrocytenmembran besteht jedoch darin, daß bisher spectrinähnliche Elemente an der Innenseite der Membranen nicht identifiziert worden sind. Anstelle dieser konnte ein cytoskeletales System identifiziert werden, das aus Mikrofilamenten und Mikrotubuli besteht (25) und das die horizontale Beweglichkeit einer Reihe von integralen Membranproteinen kontrolliert. An bestimmten Knotenpunkten (Abb. 2) ist es an die integralen Membranproteine assoziiert. Neben der Beeinflussung der Beweglichkeit und Anordnung von Rezep-

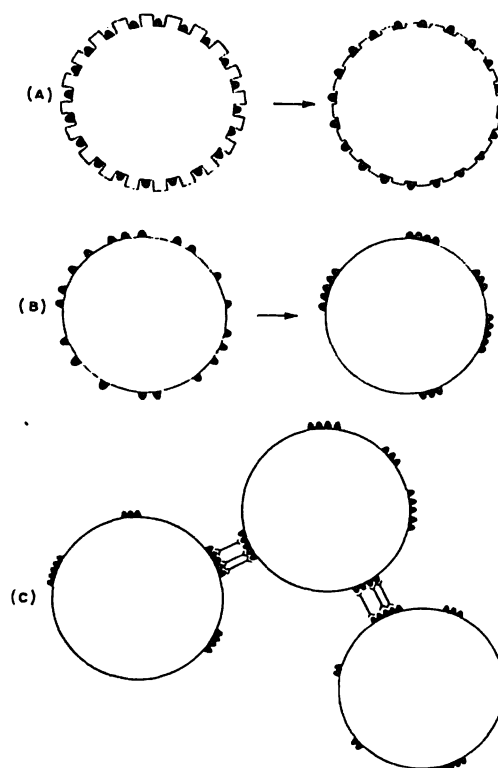


Abb. 1. Verschiedene Erklärungsmöglichkeiten für das Phänomen der Agglutination trypsinierter Zellen durch Lectine (nach Singer): A = die Exposition kryptantigener Rezeptoren (2. Ordnung!), B = Büschelbildung, welche multiple Brückenbildung zwischen den Zellen durch Lectine ermöglicht (C = Agglutination).

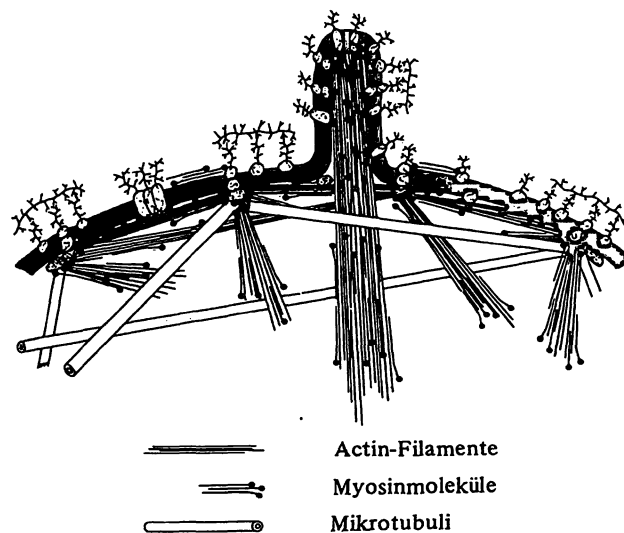


Abb. 2. Wechselwirkungen zwischen membran-assoziierten, skeletalen Mikrotubuli und kontraktilen Mikrofilament-Systemen, welche für das Wandern und die Verteilung der Oberflächen-Rezeptoren verantwortlich sind (nach Nicolson).

tor-Glycoproteinen ist natürlich auch – ähnlich wie für die Erythrocytenmembran beschrieben – eine entsprechende Beeinflussung von Glycolipiden denkbar.

Mikrotubuli sind große, starre tubuläre Strukturen (Durchmesser außen 25 nm und innen 15 nm) aus einem Protein gebildet, das Tubulin genannt wird. Sie sind bisher in den verschiedensten

Zellen gefunden worden und kommen nicht nur an der Plasmamembran, sondern auch im Cytoplasma und im Zellkern vor. Anscheinend kann schnelle Assoziation und Dissoziation des Tubulins zu Mikrotubuli vorkommen; möglicherweise sind an diesem Prozeß Calcium-Ionen und cyclische Nucleotide beteiligt.

Mikrofilamente werden von dünnen, doppel-helicalen filamentösen Strukturen gebildet (Durchmesser 6–8 nm) und sind häufig mit der Plasmamembran vorwiegend an der Innenseite in Bündeln assoziiert. Sie sind aus actin- und myosinähnlichen Proteinen zusammengesetzt, also kontraktile, und sind deshalb offenbar wichtig für die zelluläre Fortbewegung, die Änderung bzw. Beibehaltung der Zellform, für die Ausbildung von Mikrovilli und -krypten und für die Bewegung bzw. Beweglichkeit verschiedenster Plasmamembran-komponenten.

Transmembranöse cytoskeletale Kontrolle der Oberflächenrezeptoren

Mikrotubuli und Mikrofilamente sind keine wirklichen Membranproteine, jedoch membranassoziierte Moleküle, die vom Zellinneren her bzw. zum Zellinneren hin ein wichtiges Bindeglied zur Plasmamembran und insbesondere zu einigen seiner Komponenten darstellen. Über ihre gemeinsamen Ankerpunkte (Abb. 2) können sie natürlich weit differenzierter einen Einfluß auf die Anordnung und Beweglichkeit der verschiedensten Rezeptoren und sogar ganzer Areale der Zellmembran (Villi, Krypten) ausüben, als dies beispielsweise durch Spectrin bei der Erythrocytenmembran geschieht (25).

Die Bindung multivalenter Liganden (Lectine, Viren, Toxine, Immunglobuline, Hormone usw.) an Rezeptoren auf der Zelloberfläche beläßt die Rezeptoren entweder verteilt (dispertiert) oder bewirkt Rezeptor-Liganden-Komplexe in Form von Büscheln („clusters“), die ihrerseits zu scheckigen Arealen („patches“) zusammentreten können. Mehrere solcher Scheck-Muster können Kappen („caps“) bilden (Abb. 3). So bewirkt beispielsweise die Bindung von Antikörpern an Immunglobulinrezeptoren von Lymphoidzellen eine Kappenbildung, der eine Endocytose oder ein „Abschuppen“ (d. h. Abstoßen begrenzter Zelloberflächenareale in die äußere Umgebung) („shedding“) der Ig-Rezeptor-Antikörper-Komplexe folgt.

Inhibition oder gar Umkehr einer Kappenbildung kann durch Gifte, die die Mikrofilamente zerstören (wie beispielsweise Cytochalasin B, ein Pilzgift), bewirkt werden, woraus sich ergibt, daß die Rezeptor-Liganden-Büschel nur unter Mitwirkung von Mikrofilamenten Kappen bilden können.

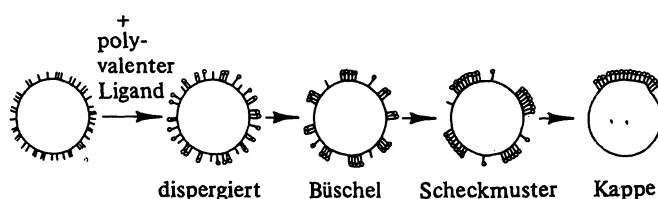


Abb. 3. Das Wandern von Rezeptoren auf der Zelloberfläche (am Beispiel eines B-Lymphocyten demonstriert) nach Zugabe eines polyvalenten Liganden (Anti-Ig) (nach Nicolson). Die entsprechenden Ig-Rezeptoren, zunächst noch gleichmäßig verteilt, bilden Büschel, dann bestimmte Scheckmuster und schließlich „Kappen“.

Eine Reihe von Zellen, so auch die normalen Fibroblasten vieler Säugetiere, adsorbieren mittels ihrer entsprechenden Rezeptoren (terminal gebundene α -Glucose- oder α -Mannose-Reste) auf ihrer Oberfläche Concanavalin A, ein Lectin aus der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*), ohne daß dabei die Zellen untereinander agglutinieren. Dadurch, daß die Rezeptoren horizontal (durch die cytoskeletalen Elemente) und vertikal (Ladungseffekte der Zellen untereinander) auf Distanz gehalten werden, kann es nicht zur Agglutination kommen.

Gewisse Lokalanästhetika der Gruppe der tertiären Amine (Dibucain, Tetracain, Procain) bewirken drastisch eine Agglutinabilität der Zellen untereinander, indem sie die transmembranöse Kontrolle der Oberflächenrezeptoren durch das Auseinanderbrechen der Bindung zwischen integralen Membranproteinen und sowohl Mikrotubuli als auch Mikrofilamenten unmöglich machen. Büschelbildung ermöglicht dann Agglutinabilität durch Concanavalin A (25).

Abbildung 4 soll noch einmal alle Faktoren veranschaulichen, die eine Zellagglutination durch Lectine oder Immunglobuline (vor allem Immunglobulin G) fördern oder hemmen. Somit ist zusammenfassend die Antigenität nicht nur durch Einzelmoleküle bestimmt, sondern im wesentlichen auch durch ihre horizontale und vertikale Anordnung in bzw. auf der Plasmamembran, durch ihre topochemische Beziehung zu benachbarten Regionen des gleichen Gesamtmoleküls oder anderer naheliegender Moleküle, sowie durch ihre Dynamik, d. h. die Möglichkeit, über die transmembranöse cytoskeletale Kontrolle auf einen inneren oder äußeren Reiz hin diese topochemischen Relationen dahingehend zu ändern, daß antigene Determinanten entweder pseudokryptisch werden oder neue auftauchen oder bereits accessible sich in ihrer Dichte und Anordnung (Büschel, Scheck-Areale, Kappen) derart verändern, daß bestimmte immunologische Reaktionen oder Begleitreaktionen (Agglutination, Komplementlyse (s. unten), Endocytose, „shedding“) möglich werden.

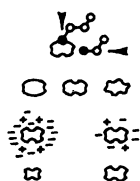
Malignität und Transformation

Maligne Degeneration einer Zelle in vivo bedeutet autonomes Wachstum, d. h. fehlende Wachstumskontrolle durch die Umgebung (Kontaktinhibition) und damit infiltratives Wachstum in die Umgebung hinein, mangelnde Adhäsivität und damit die vermehrte Bereitschaft, sich aus dem Zellverband herauszulösen, um nach Abtransport durch den Lymph- oder Blutstrom sich an anderer Stelle wieder anzusiedeln (Metastasenbildung). In vivo ist dieses Geschehen jedoch außerordentlich heterogen: die eigentliche Ursprungszelle des Tumors auszumachen ist unmöglich. Die verschiedensten Zellen teilen sich zu verschiedensten Zeitpunkten, das Ausmaß der Zellentdifferenzierung ist nicht einheitlich, dementsprechend kommen verschiedene Zelltypen mit nicht einheitlichen Antigenmerkmalen vor, und auch die Mög-

Faktoren, die die Agglutination von Zellen durch Lectine beeinflussen

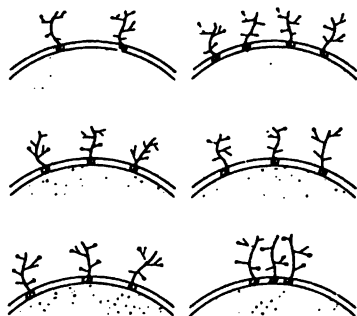
1. Lectine als Agglutinations-Moleküle

- a) Saccharid-Bindungskonstante
- b) Zahl der Bindungsstellen
- c) Nettoladung
- d) Größe



2. Natur der Lectin-Rezeptoren

- a) Zahl der Bindungsstellen
- b) Anordnung auf der Membran
- c) Beweglichkeit der Bindungsstellen

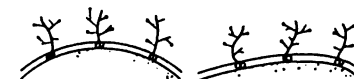


3. Eigenschaften der Zelloberfläche

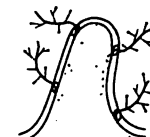
- a) Ladungsdichte an der Oberfläche



- b) Starre/Deformierbarkeit der Oberfläche



- c) Oberflächenstrukturen (Mikrovilli usw.)



4. Cytoplasma-Bestandteile

- a) peripheres Membranprotein



- b) membran-assoziierte kontraktile Proteine



Abb. 4. Areal- und Relief-Topographie von Lectin-Rezeptoren auf der Zelloberfläche (nach Nicolson).

lichkeit der Metastasenbildung ist je nach Entdifferenzierung und je nach lokalen Gegebenheiten sehr verschieden. Schließlich dürfte auch die Entstehung und Entwicklung von Metastasen vom Ort der Neuansiedlung weggeschwemmter Zellen abhängig sein. Es bietet sich deshalb zunächst an, die Entstehung der Malignität experimentell *in vitro* nachzuvollziehen, um an einem relativ einheitlichen Material cytologische, biochemische und immunologische Untersuchungen durchführen zu können.

In den vergangenen Dezennien sind eine ganze Reihe von verschiedensten Zellen menschlicher Herkunft und aus Säugetierorganen mit Erfolg in der Gewebekultur gezüchtet worden (Fibroblasten, Hamsterembryo-Nierenzellen, Leberzellen, lymphoide Zellen u.v.a.m.). Solche Zellen, die einem festen Organverband entnommen werden konnten und in der Kultur angingen, zeichnen sich nach der Aussaat auf den Kulturboden durch sich immer wiederholende Zellteilung und -bewegung so lange aus, bis sie konfluieren und einen einheitlichen Zellrasen bilden, der in der Regel aus einer einzigen zusammenhängenden Schicht (Monolayer) von Zellen besteht. Wachstum und Teilung der Zellen hören also in dem Moment auf, wo die Zellen sich einander berühren (Kontaktinhibition) (Abb. 5 a, b). Nach Exposition mit onkogenen Viren, chemischen Carcinogenen, Röntgen- oder Gammastrahlen (26–28) geht die Kontaktinhibition verloren, die Zellen wachsen regellos weiter, so daß schließlich mehrere Zellschichten festgestellt werden

können (Abb. 5 c). Es erhebt sich nun die Frage, welche Veränderungen an der Zelloberfläche mit dieser malignen Degeneration der Zellen *in vitro*, also per definitionem, mit der Zelltransformation einhergehen.

Der Einfluß der Zelltransformation auf die Topographie der Plasmamembran

Wohl am bekanntesten ist die Tatsache, daß eine ganze Reihe von Lectinen (s. Tab. 1) untransformierte, normale Zellen nicht oder nur schwach agglutiniert, im

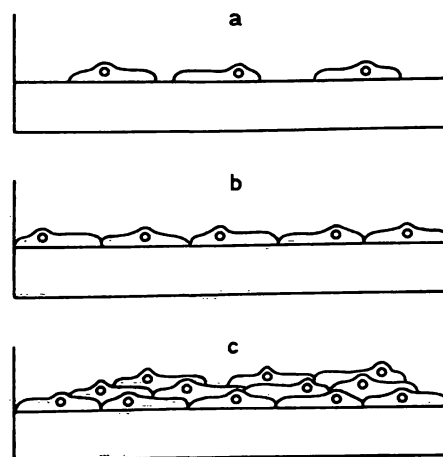


Abb. 5. Zellen in der Gewebekultur: Wachstumsphase (a), Wachstums-Ruhephase durch Kontaktinhibition (b) und Verlust der Kontaktinhibition nach Transformation (c).

Tab. 1. Lectine, die a) transformierte und nicht transformierte Zellen unterschiedlich agglutinieren und b) ausschließlich Tumorzellen agglutinieren (verändert nach *Burger*, unter Hinzunahme eigener Ergebnisse).

Lectine	Spezifität	Zell-Linien (Agglutination vor Transformation negativ oder schwach positiv, nach Transformation ++)
a) Concanavalin A	α -Glc α -Man	Mäusefibroblasten („3T3“) Rattenhepatocyten Hamsterembryonierenzellen (BHK) Kükenembryofibroblasten (CEF) Menschenlymphocyten
Weizenkeim-Agglutinin	β -GlcNAc	Mäusefibroblasten (3T3) Rattenhepatocyten Hamsterembryonierenzellen (BHK) Kükenembryofibroblasten (CEF) Menschenlymphocyten
<i>Ricinus-communis</i> -Agglutinin	β -Gal	Mäusefibroblasten (3T3) Rattenhepatocyten Hamsterembryonierenzellen (BHK) Menschenlymphocyten Gliazellen
Sojabohnen-Agglutinin	α , β -Gal α , β -GalNAc	Mäusefibroblasten
Tridacnin	β -Gal	Hamsterfibroblasten (NIL)
b) <i>Lens culinaris</i> (<i>Lens esculata</i>)	α -Man α -Glc	Rattenhepatomzellen Yoshida Sarkomzellen
Anti-A aus <i>Helix pomatia</i>	α -GalNAc	Hela, Detroit Tumorzellen von Personen der Blutgruppe 0 und B Hamsterembryonierenzellen (transformiert) Mäusefibrosarkomzellen Mäuse-Ehrlich-Asciteszellen Mäuse-SOV 16 Leukämiezellen ZASDELA-Rattenhepatomzellen

Gegensatz zu transformierten Zellen, die deutlich agglutiniert werden. Als Ursachen, die zu dieser verstärkten Agglutinabilität führen, hat man mehrere mögliche Mechanismen diskutiert (27–30):

1. de-novo-Synthese antigener Determinanten, die durch das Virus-Gen codiert sind,
2. Aktivierung sonst stummer Gene der Wirtszelle, die für die Synthese neuer antigener Determinanten (speziell terminaler Kohlenhydratstrukturen) verantwortlich sind (Glycosyltransferasen),
3. Bloßlegung
 - a) kryptischer oder
 - b) pseudokryptischer Determinanten,
4. Neuverteilung der Determinanten (Büschelbildung),
5. Abnahme der Zellgröße und damit Erhöhung der Dichte der antigenen Determinanten.

Speziell im Hinblick auf die Lectinrezeptoren der transformierten Zellen kann zu den Punkten 1–3 gesagt werden, daß in den meisten Fällen normale und transformierte Zellen die gleiche oder annähernd gleiche Menge an Lectin binden, ohne daß es bei den normalen Zellen zur Agglutination kommt (27–30), daß also eine de-novo-Synthese dafür nicht oder nur unwesentlich in

Frage kommt; auch eine Bloßlegung kryptischer Determinanten, z. B. durch Glycosidasen, dürfte hierbei keine entscheidende Rolle spielen. Werden jedoch normale Zellen im Stadium des Wachstumsstillstandes mit Proteasen (Papain, Trypsin, Pronase) behandelt (27), so beginnen sie sofort mit der DNA-Synthese, teilen sich und verhalten sich für einen Zellzyklus so, wie es transformierte Zellen tun: sie wachsen weiter trotz Zellkontakt. Während dieser Zeit, in der die Kontaktinhibition als Wachstumskontrolle nicht funktioniert, sind die Zellen genauso agglutinabel wie transformierte Zellen. Nach Wiederherstellung der Oberflächenproteinmoleküle und Durchlaufen eines Zellzyklus konnten die Zellen durch Lectine nicht mehr agglutiniert werden (27).

Interessanterweise können transformierte Zellen und auch Tumorzellen vermehrt (oder aktivere) Proteasen besitzen, die mit zur Ausschaltung der Wachstumskontrolle beitragen können (29). Einige Proteaseinhibitoren hemmen das Wachstum transformierter Zellen (27). In diesem Zusammenhang sei aber vor allem daran erinnert, daß Proteasen die transmembranöse cytoskeletale Kontrolle dahingehend ändern, daß sonst relativ starre Rezeptoren auf der Zelloberfläche beweglich werden und damit eine Neuverteilung zu Büscheln ermöglicht wird (22, 25).

Eine größere Beweglichkeit der Lectinrezeptoren und deren Neuverteilung zu Büscheln nach Inkubation mit Lectinen konnte bei transformierten Zellen eindrucksvoll durch fluoreszenzmikroskopische und elektronenmikroskopische Studien gezeigt werden (29). Offensichtlich ist die transmembranöse cytoskeletale Kontrolle vermindert oder aufgehoben (29).

Werden transformierte Zellen vor Inkubation mit Lectinen an ihrer Oberfläche glutaraldehyd-fixiert, so bleibt die seitliche Beweglichkeit der Concanavalin A-Rezeptoren aus und die Zellen bleiben nicht agglutinabel (31). Folglich ist die verstärkte Lectin-Agglutinabilität transformierter Zellen in erster Linie auf die gesteigerte Mobilität der Lectin-Rezeptoren zurückzuführen, die

1. eine Büschelbildung ermöglicht und
2. bei der Lectin-Bindung der möglichen sterischen Hinderung durch benachbarte Moleküle durch seitliches Ausweichen begegnen kann (Bloßlegung pseudokryptischer Determinanten).

Die Büschelverteilung der Lectin-Rezeptoren auf der Zelloberfläche rührt vornehmlich von der zufälligen, ungesteuerten Lectin-Rezeptor-Diffusion im Lipid-Bilayer her, die zu normalen Quervernetzungen der Rezeptoren und der polyvalenten Lectin-Moleküle führt („zweidimensionale Präzipitate“) (36). Sind die Lectin-Moleküle nicht polyvalent – wie beispielsweise succinyliertes Concanavalin A, das divalent ist –, so wird die Agglutination erheblich abgeschwächt, oder bleibt sogar aus (32). Umgekehrt kann die Zellagglutination durch Polymerisation von Lectin-Molekülen – insbesondere Sojabohnenagglutinin – verstärkt werden (10).

Andererseits sollte nicht unerwähnt bleiben, daß allzu große seitliche Neuverteilung bis zur Kappenbildung der Rezeptoren die Agglutinabilität vermindert (33). Im Hinblick auf spätere Kapitel ist dies besonders wichtig. Die verminderte Agglutinabilität läßt sich am einfachsten dadurch erklären, daß Bildung von Kappen oder wenigen großen Flecken (Scheck-Muster) die Rezeptoren vom größten Teil der Zelloberfläche entfernt und damit die Chance einer Zellkollision genau an zwei gegenüberliegenden Rezeptorkonzentrationen vermindert; schließlich wird eine Agglutination von wesentlich mehr als 2 Zellen durch Kappenbildung so gut wie ausgeschlossen.

Vermehrtes Vorkommen von Pseudopodien und Mikrovilli ist bei Tumorzellen beobachtet worden (34). Man kann annehmen, daß solche morphologischen Veränderungen ebenfalls zu einer Steigerung der Agglutinabilität führen, sofern die Rezeptoren vermehrt an den Spitzen der Mikrovilli zu finden sind. Jedenfalls führt eine Erhöhung des intrazellulären cyclischen AMP zu einer Verminderung der Mikrovilli (35). Die möglichen Funktionen des cyclischen AMP für das membran-assoziierte cytoskeletale System sollen weiter unten diskutiert werden.

Bei bestimmten virustransformierten Zellen sind die topochemischen Änderungen umkehrbar: werden BHK-Zellen mit

temperaturempfindlichen Polyomaviren transformiert und dann im temperaturunempfindlichen Bereich (32°C) wachsen gelassen, so zeigt sich eine verstärkte Agglutination gegenüber *Ricinus communis*-Agglutinin und Agglutinin aus Weizenkeimen (*Triticum vulgare*) bei ungefähr gleich gebliebener Adsorption der beiden Lectine im Vergleich zum nicht transformierten Status. Bei Wachstum im temperaturempfindlichen Bereich zeigen die transformierten Zellen eine den normalen Zellen gegenüber etwa gleiche Agglutinabilität (Revertanten) (36).

Die Plasmamembran in Zellcyclus und -wachstum: Beziehungen zur Transformation

Die Plasmamembran ist im Verlauf eines Zellcyclus' sowohl in ihrem topographischen als auch molekularen Aufbau ständigen Änderungen unterworfen. Besonders auffällig sind die Änderungen zum Zeitpunkt der Konfluenz (Kontaktinhibition).

Zur Analyse dieser ständigen Modifikationen eignen sich wiederum am besten in der Kultur gezüchtete Zellen. Voraussetzung dazu ist jedoch die Synchronisation der Zellteilungs- und -wachstumsvorgänge in allen Zellen. Um alle Zellen in ihren verschiedenen Cyclus- und Wachstumsstadien synchron zu bekommen, bedient man sich verschiedener experimenteller Handgriffe: beispielsweise verhindert die Doppel-Thymidinblock-Methode während der Generationszeit den Eintritt der Zellen in die S-Phase (s. unten). Wechselt man dann das Kulturmedium, so treten alle Zellen gleichzeitig in die S-Phase ein. In einem anderen Fall werden Kulturzellen nach Kontaktinhibition trypsiniert und neu ausgesät; daraufhin beginnen alle Zellen gleichzeitig mit einer neuen Generationsphase zu wachsen. Man teilt den Zellcyclus je nach Verhalten der DNA in verschiedene Phasen ein:

1. präsynthetische (postmitotische) Phase (G_1)
2. DNA-Synthese-Phase (S)
3. postsynthetische (prämitotische) Phase (G_2)
4. Mitosephase (M)
5. alternativ:
 - a) entweder erneut die G_1 -Phase oder
 - b) nach Konfluenz: Ruhephase (G_0)

Der Eintritt in die G_0 -Phase ist vor allem gegenüber der M-Phase (Tab. 2) durch erhöhte Glycosyltransferaseaktivitäten (bezogen auf terminale Zucker) und konsequenterweise durch Glycolipide und teilweise auch Glycoproteine, die allerdings diesbezüglich weniger untersucht sind, gekennzeichnet, die sich gegenüber ihren Vorstufen während der Generationszeit durch eine um einen Zucker terminal verlängerte Oligosaccharidkette auszeichnen. Offensichtlich induziert im Augenblick der Konfluenz der Zellkontakt Glycosyltransferasen der terminalen Zucker und inhibiert die entsprechenden Glycosidasen (44–46). Erst diese um einen terminalen Zucker verlängerten Oligosaccharidstrukturen sind für die Zelle offensichtlich das Signal, Zellwachstum und -teilung einzustellen.

Dies ist durch einige geniale Experimente eindrucksvoll veranschaulicht worden. Wird beispielsweise Globosid ($\beta\text{GalNAc } 1 \rightarrow 3 \alpha\text{Gal } 1 \rightarrow 4 \beta\text{Gal } 1 \rightarrow 4 \beta\text{Glc-Ceramid}$ = Blutgruppen-P-Antigen) dem Gewebekulturmedium hinzugefügt, so bauen im Wachstum befindliche NIL-Zellen (Hamsterembryofibroblasten) diese Substanz in ihre Plasmamembran ein; gleichzeitig wird das weitere Wachstum erheblich gebremst, insbesondere dadurch, daß die G_1 -Phase verlängert und somit der Eintritt in die S-Phase erheblich verzögert wird (47). Augenfällig ist die damit gleichzeitig auch verbundene Änderung der Adhäsivität; werden die auf beschriebene Weise vorbehandelten Zellen bis zur Konfluenz

Tab. 2. Zellzyklus, DNA-Synthese und topochemische Wandlung der Plasmamembran normaler und transformierter Zellen (aus 27, 29, 37-43)

	Generationszeit						Ruhezeit	
	G ₁	S	G ₂	M	früh	spät	G ₀	transformiert
DNA-Menge 4 n 2 n								
DNA-Synthese und Verteilung auf die Tochterzellen								
Morphologie (Rasterelektronenmikroskopie der Zelle und deren Oberfläche)				viele Mikrovilli, runder Form der Zelle			glatte Oberfläche, flache Zelle	unregelmäßige Oberfläche, weniger flache Zelle
Adhäsivität der Zelle (Klebrigkeit am Untergrund)				(+)			+++	(+)
Elektrophoretische Beweglichkeit				hoch			niedrig	hoch
Agglutinabilität durch Lectine		φ(+)	φ(+) +	+++	+	φ(+)	φ(+)	+++
Glycosidaseaktivitäten (Gesamtzelle)	Anstieg	maximal	Abfall	minimal (oder Abfall)	minimal		erniedrigt	erhöht
Einbau von Galaktose in verschiedene Glycolipide				maximal				
Radioaktive Markierbarkeit verschiedener Glycolipide		minimal	minimal	minimal	Anstieg	Abfall		gleichbleibend, erhöht
Glycolipidgehalt mit verlängerter Oligosaccharidkette	→			weitgehend konstant			vermehrt (= vollständig glycosyliert)	vermindert (= unvollständig glycosyliert)
Membran-Glycosyltransferase-Aktivitäten	→			verhältnismäßig niedrig			erhöht	erniedrigt
Zellkontaktabhängigkeit der Plasmamembran-Glycosyltransferasen				unabhängig			abhängig	unabhängig
Agglutinierbarkeit mit Anti-Hämatosid-Serum (gilt nicht für alle Zell-Linien)							φ	+
Serologische Accessibilität mit Anti-Forsman-Serum von BHK-Zellen							φ	+
Ganglioside								
Glycoproteine (allgem.)				unvollständig glycosyliert, Fucose- und NANA-haltige Glycopeptide vermehrt			vollständig glycosyliert, Vorhandensein komplexer Ganglioside	unvollständig glycosyliert, Fehlen komplexer Ganglioside, manchmal einfache Ganglioside vermehrt
Galaktoprotein a-Gehalt			Spuren	Spuren	++		maximal	φ
Radioaktive Markierbarkeit von Galaktoprotein a	→		konstant		von Cyclus zu Cyclus vermehrt		erhöht	φ
Intrazelluläres cyclisches AMP		maximal	Abfall	minimal	Anstieg		maximal	vermindert

weiter wachsen gelassen, so ist es verhältnismäßig weitaus schwieriger, wenn nicht sogar unmöglich, den Gesamtverband in Einzelzellen aufzulösen; statt dessen können nur Zellklumpen präpariert werden. Weder eine Änderung der Adhäsivität noch eine Änderung des Wachstumsverhaltens konnte unter gleichen Versuchsbedingungen an mit Polyoma-Virus-transformierten NIL-Zellen beobachtet werden.

Im allgemeinen dürfte aber das Auftauchen komplexerer Glycolipide in oder auf der Plasmamembran normaler Zellen nicht durch Inkorporation des Gesamtmoleküls zurückzuführen sein, sondern durch biosynthetische Ergänzung der bereits auf der Membran vorhandenen Vorstufen. Schon vor einigen Jahren (48) waren neben den Glycosyltransferasen des Golgi-Apparates auch solche auf der Zelloberfläche angenommen worden. Ihr spezifischer Nachweis gelang dadurch, daß Glycolipide (1. Dihexosylceramid = β Gal 1 \rightarrow 4 β Glc-Ceramid; 2. Trihexosylceramid = Blutgruppen-P^k-Antigen = α Gal 1 \rightarrow 4 β Gal 1 \rightarrow 4 β Glc-Ceramid; 3. Blutgruppen-P-Antigen = Globosid, s. o.) an kleine Glaspartikel gebunden wurden; kamen intakte Zellen mit diesen Glaspartikeln in der Gewebekultur in Kontakt, so wurden in Gegenwart aktiver Zucker (UDP-Gal, CMP-Neuraminsäure, UDP-GalNAc) die an den Glaspartikeln gebundenen Vorstufen in die um eine Zuckereinheit komplexeren Glycolipide umgewandelt (1. Trihexosylceramid = α Gal 1 \rightarrow 4 β Gal 1 \rightarrow 4 β Glc-Ceramid oder Hämatosid = α NANA2 \rightarrow 3 β Gal 1 \rightarrow 4 β Glc-Ceramid; 2. Globosid, s. o.; 3. *Forssman*-Hapten = α GalNAc 1 \rightarrow 3 β GalNAc 1 \rightarrow 3 α Gal 1 \rightarrow 4 β Gal 1 \rightarrow 4 β Glc-Ceramid) (49). Somit muß als wahrscheinlich angenommen werden, daß

1. die Aktivierung der Biosynthese der Zelloberflächenglycolipide zellkontaktabhängig ist und
2. die Glycosylierung zwischen zwei Zellen in der Weise vor sich geht, daß jeweils die Zelloberflächenglycosyltransferasen der einen Zelle die Glycolipide auf der Oberfläche der anderen Zelle glycosylieren (44, 48, 49).

Für diesen Biosyntheseschritt genügen jedoch wahrscheinlich nicht allein Zuckernucleotide, welche möglicherweise überhaupt nicht direkt auf den Zelloberflächen verfügbar sind, da sie in der üblichen wasserlöslichen Form schwerlich festgehalten werden könnten. Mittler der Reaktion dürfte höchst wahrscheinlich ein bisher noch unbekannter membranlipidgebundener (M) Zuckerträger sein (49), der nach heutigen Erkenntnissen ein Retinolphosphat(Rp)-Zucker sein kann; jedenfalls kann Retinol und mehr noch beispielsweise Retinolphosphat-Galaktose die Zelloberflächenglycosylierung erheblich verstärken (49). Die gesamte Reaktion dürfte dann beispielsweise folgendermaßen ablaufen (44): UDP-Gal + Rp-M \rightarrow Rp-Gal + M + UDP; Rp-Gal + Gal-Glc-Cer \rightarrow Gal-Gal-Glc-Cer + Rp. Wie diese Reaktion in der Membran ablaufen kann, ist schematisch in Abbildung 6A dargestellt. Vergleichsweise dazu ist noch einmal die Glycosylierung glaspartikelgebundener Glycolipide wiedergegeben (Abb. 6B).

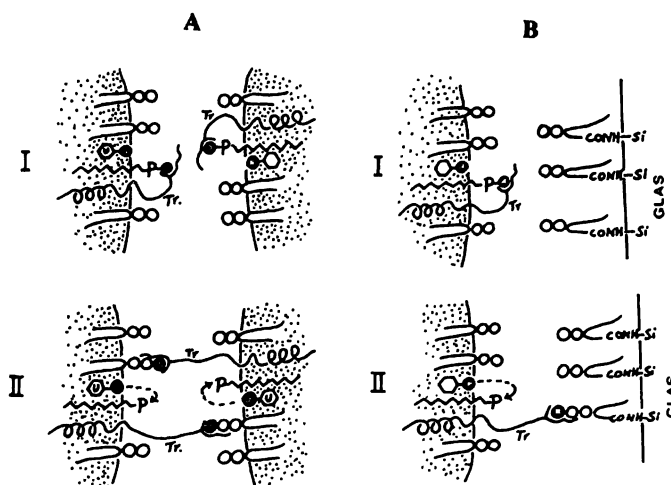


Abb. 6. Zellkontakt und Intergalaktosylierung (nähere Erklärung im Text) (nach Yogeewaran & Hakomori).

A = Der Galaktosyl-Rest (schwarz) im Retinolphosphat stammt von der UDP-Galaktose (u). Beim Zellkontakt wird er zur Transglycosylierung des Glycolipids auf der Partnerzelle – durch eine spezifische Transferase TR – benutzt. I = Phase vor, II = Phase nach der interzellulären Glycosylierung. B = Der gleiche Prozeß läuft auch bei Glycolipid-Glas-Komplexen als Partner ab.

Das Schema veranschaulicht auch sehr schön den intakten Zustand der Glycosyltransferasen bei fehlendem Zellkontakt: die durch die Bindung der aktiven Zentren der Transferasen an den Zuckerteil des in der gleichen Zellmembran benachbarten Retinolphosphat-Zuckers bedingte Konformation ist für den relativ inaktiven Zustand verantwortlich. Die Affinität zur unfertigen Oligosaccharidkette an der Oberfläche anderer, aber gleicher Zellen ist jedoch größer und bewirkt im Augenblick der Konfluenz einen Transfer des Zuckers vom Retinolphosphat zur unfertigen Oligosaccharidkette der gegenüberliegenden Zelle. Nach Glycosylierung bleibt das aktive Zentrum der Transferase an den terminalen Zucker nicht kovalent gebunden, und dadurch erklärt sich auch die gesteigerte Adhäsivität zusammenhängender, kontaktinhibierter Zellen. Der ganze Vorgang bedingt natürlich eine konformative Änderung der Transferasen, die ihrerseits ein in das Zellinnere (über das membranassoziierte cytoskeletale System unter Einbezug des cyclischen AMP?) gerichtetes Signal zur Inhibition der DNA-Synthese darstellt. Jedenfalls muß dieser gesamte Mechanismus bei der Konfluenz transformierter Zellen gestört sein, denn der Anbau des terminalen Zuckers an die bereitgestellte, unfertige Oligosaccharidkette findet nicht statt und gleichzeitig werden transformierte Zellen nicht kontaktinhibiert, sie wachsen regellos und teilweise übereinander weiter.

In den letzten Jahren sind zahlreiche Arbeiten über Struktur und Biodynamik der Glycolipide in Kultur gezüchteter Zellen sowie deren transformierter Analoge veröffentlicht worden (als Übersichten s. l.c (44), (45)). Beispielsweise ist die Aktivität der UDP-Gal: lactosylceramid- α -galaktosyltransferase (EC 2.4.1.00) um das

2–3fache in normalen kontakthihibierten BHK- und NIL-Zellen erhöht im Vergleich zur Enzymaktivität im Stadium niedrigerer Zelldichte. Im Gegensatz dazu beträgt die Aktivität dieses Enzyms bei Polyoma-Virus-transformierten BHK- und NIL-Zellen nur 10–50% im Vergleich zu der normal wachsender Zellen. Die Enzymaktivität transformierter Zellen ist im Gegensatz zu derjenigen nicht transformierter, normaler Zellen nicht durch die Zelldichte beeinflussbar. Die α -Galaktosidase-Aktivität ist in Polyoma-transformierten Zellen größer als in normalen Zellen (46).

Demgegenüber sind diesbezügliche Untersuchungen über die zellmembranengebundenen Glycoproteine nicht einheitlich. Beispielsweise besitzen mit Rous-Sarkom-Viren transformierte BHK-Zellen neben Glycopeptiden mit einem relativ kleinen Molekulargewicht, die auch in normal wachsenden BHK-Zellen vorkommen, solche mit einem größeren Molekulargewicht, die fast ausschließlich in den Plasmamembranen der transformierten Zellen zu finden sind (50). Inkubation der größeren Glycopeptide mit Neuraminidase ergab Glycopeptide, die bei der Molekularsieb-Säulenchromatographie sich ähnlich verhielten wie die kleineren Glycopeptide, also mit vermeintlich identischem Molekulargewicht. Man schloß daraus, daß die größeren Glycopeptide nichts anderes darstellten als die jeweils um mehrere Neuraminsäuremoleküle vergrößerten kleineren Glycopeptide (50). In diesen transformierten Zellen wurde dementsprechend auch eine um das 2,5–11-fache in ihrer Aktivität erhöhte Sialyltransferase gefunden (50).

Kürzlich wurden diese größeren Glycopeptide (also diejenigen fast ausschließlich transformierter Zellen) und kleineren Glycopeptide (also diejenigen nicht transformierter und transformierter Zellen) näher untersucht (51): dabei stellte sich heraus, daß die Unterschiede im Molekulargewicht nicht allein auf zusätzliche oder fehlende Neuraminsäurereste zurückzuführen sind. Enzymatischer Abbau der größeren Glycopeptide mit Neuraminidase, β -Galaktosidase und β -N-Acetylglucosaminidase ergab Glycopeptide, die in vielerlei Hinsicht strukturelle Identitäten mit denen der kleineren Glycopeptide aufzeigten. Die kleineren Glycopeptide konnten an Concanavalin A gebunden werden, die größeren jedoch nicht – auch dann nicht, wenn die größeren nur mit Neuraminidase vorbehandelt waren. Die Autoren schlossen daraus, daß die größeren Glycopeptide wahrscheinlich um mehrere ganze Oligosaccharidketten (Abb. 7) erweitert sind. Diese Tatsache ist umso bemerkenswerter, als hier also Kryptantigene nicht so sehr bei den transformierten, sondern eher bei den normal wachsenden Zellen gefunden worden sind. Die Befunde lassen also zunächst für einen Teil der Glycoproteine deutliche Unterschiede im Vergleich zu den Glycolipiden hinsichtlich der Stoffwechsel- und Strukturveränderungen nach Transformation erkennen: sind die Glycolipid-Glycosyl-Transferasen nach Transformation eher erniedrigt, so können einige Glycoprotein-Glycosyl-

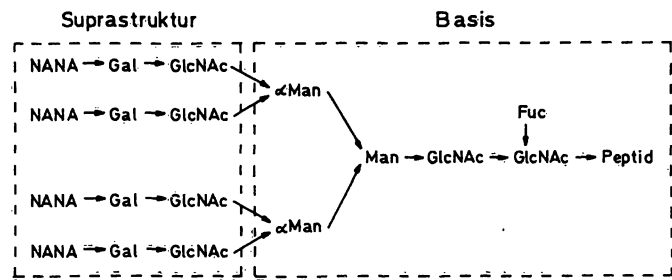


Abb. 7. Strukturmodell der meisten höhermolekularen Glycopeptide aus transformierten Zellen (nach Ogata et al.). Die niedrigmolekularen Glycopeptide haben eine entsprechend geringere Anzahl von Seitenketten in der Suprastruktur.

transferasen (speziell die Sialyltransferase) unter Umständen erhöht sein, was einerseits zu einer vermehrten Maskierung antigener Determinanten des gleichen (Kryptantigenität) oder eines topographisch benachbarten Moleküls (Pseudokryptantigenität) führen mag und andererseits die erhöhte elektrophoretische Beweglichkeit transformierter Zellen und damit auch das gesteigerte Zetapotential erklärt. Werden temperatur-sensitive Virus-Mutanten zur Transformation benutzt, so verschwinden weitgehend die relativ größeren Glycopeptide nach Wachstum in einem unzulässigen Temperaturbereich (52). Andererseits gibt es aber auch Untersuchungen z. B. an SV-40 transformierten (3T3)-Mäusefibroblasten, die einen deutlich verminderten Gehalt an Neutral- und Aminosackern, sowie an Neuraminsäure im Vergleich zu nicht transformierten Analogen aufzeigen (52).

Ein weiteres Glycoprotein spielt anscheinend eine besondere Rolle bei der Transformation: es hat ein Molekulargewicht von etwa 200.000 bis 250.000, ist 250 K-Oberflächen-Protein, LETS-Protein (large external, transformation-sensitive protein), Komponente I, Komponente Z oder CSP (cell surface protein) oder Galaktoprotein a genannt worden (29, 53). Es ist bereits bei einer ganzen Reihe von Zelllinien aus Hamstern, Ratten, Mäusen und Küken durch Lactoperoxidase-katalysierte Jodierung oder Galaktose-Oxidase-Natriumbortritid-Reduktion identifiziert worden. Seine Zelloberflächenkonzentration ist empfindlich zellcyclus- und -dichteabhängig und verschwindet völlig nach Transformation (s. Tab. 2).

Werden normale Hamsterembryofibroblasten (NIL-Zellen) nach Galaktose-Oxidase-Behandlung mit Natriumbortritid reduziert, so werden zwei große Galaktoproteine radioaktiv markiert (54): Galaktoprotein a (s. o.) und Galaktoprotein b (Mol. Gew. 130.000). Die Markierung von Galaktoprotein a ist nur bei normalen, nicht transformierten Zellen möglich. Die Markierung von Galaktoprotein b konnte nur bei transformierten Zellen verstärkt werden, was darauf hindeutet, daß unter normalen Umständen Galaktoprotein b durch Galaktoprotein a pseudokryptisch verdeckt ist (54). Da offensichtlich die Bindungsstellen für eine Reihe von Lectinen (vor allem Concanavalin A und Ricinus communis-Lectin) vor und nach Transformation annähernd gleich sind (s. o.), hat dieses Ergebnis zur Folge, daß die Bindungsstellen offensichtlich vor und nach Transformation zwangsläufig verschiedene sein müssen.

matisch abgebaut, bis jeweils Substanzen der Strukturen 3 und 1 erhalten worden waren, und wurden Kaninchen mit diesen H-III Vorstufensubstanzen und mit H-III selbst immunisiert, so wurden hochspezifische Antiseren gegen die entsprechenden Glycolipide erhalten (Anti H-III₄, Anti H-III₃, Anti H-III₁). Wurden nun die Glycolipidfraktionen verschiedener Adenocarcinome mit den genannten Antiseren im Komplementfixationstest auf den Gehalt der entsprechenden Antigene und Kryptantigene untersucht, zeigte im Vergleich zum normalen Epithelgewebe neben einer geringeren Abnahme der H-III Substanz und einer vereinzelt gefundenen geringen Zunahme der Struktur-3-analogen Substanz eine deutliche Zunahme der Substanz mit der Struktur 1. Die antigenen Determinanten der Strukturen 1 und 3 reagieren auch deutlich mit dem Lectin aus Weizenkeimen (*Triticum vulgare*), das Kreuzreaktivität mit dem Anti-CEA¹ aufweist (s. unten). Offensichtlich nehmen mit erhöhter Tumorigenität und damit gesteigerter Entdifferenzierung besonders die langkettigen Glycolipide (A-III, B-III, H-III u. ä.) im Tumorgewebe ab (67).

In Parallelität zur Onkogenese konnte gefunden werden, daß auf fetalen oder Neugeborenenerythrocyten die Substanzen A-III und H-III (und evtl. noch komplexere Blutgruppenantigene) fehlen oder nur in sehr geringen Mengen vorkommen (66). Im Gegensatz dazu sind die A-I und A-II-Varianten quantitativ und qualitativ schon vor der Geburt voll entwickelt. Außerdem zeigen fetale Erythrocyten eine relativ höhere Reaktivität gegenüber Anti-H-III₁, was auf einen höheren Gehalt an β GlcNAc1 \rightarrow 3 β Gal 1 \rightarrow 4Glc-Ceramid hinweist. Die Untersuchungsbeobachtungen lassen annehmen, daß während der Ontogenese mit zunehmender Differenzierung komplexe Zelloberflächenglycolipide Schritt für Schritt aufgebaut werden und daß während der Onkogenese mit zunehmender Entdifferenzierung durch Blockade entsprechender Glycosyltransferasen in ihrer Komplexität immer mehr abnehmende Vorstufenglycolipide auftauchen (68).

Auch bezüglich der Anordnung der Glycolipide auf der Plasmamembran ergeben sich Parallelen zwischen Onto- und Onkogenese: während das P-Antigen (Globosid) auf Erwachsenenerythrocyten ein Pseudokryptantigen 2. Ordnung darstellt, (s. o.) ist es auf transformierten Zellen und auf fetalen Erythrocyten direkt serologisch zugänglich (auch mittels IgG) (69).

Parallelen zwischen Onto- und Onkogenese ergeben sich schließlich auch bei der bisher bekanntesten Gruppe tumorassoziierten Antigene, nämlich der carcinofetalen Antigene. Da ist zunächst einmal das carcinoembryonale Antigen zu nennen, das sowohl im embryonalen Gastrointestinaltrakt als auch in Gastrointestinaltumoren und im Serum von Patienten mit diesen Tumoren vorkommt, aber im Gastrointestinaltrakt des Erwachsenen nicht oder nur in Spuren anzutreffen ist (70). Es ist ein in 1 mol/l Perchlorsäure lösliches Glycoprotein mit einem Mol.Gew. von 200.000 und enthält etwa 40–75 % Kohlenhydrate (71). Ein Glycolipid mit CEA-Aktivität ist ebenfalls aus Adenocarcinomen und (spurenweise) auch aus Erythrocyten isoliert worden (72). Es ist vorgeschlagen worden, daß die CEA-Oligosaccharide Vorstufensubstanzen der ABH-Blutgruppen-Antigene sind (73), das Gesamtmolekül soll – zumindest teilweise – Typ XIV-, I- und H-antigene Determinanten, also tatsächlich AB-Kryptantigene aufweisen (73, 74). Für diese Theorie spricht, daß einige Autoren in ihren CEA-Präparationen AB- und Lewis-Antigenität nachweisen konnten (75). Dagegen spricht, daß andere Autoren affinitätschromatographisch A- und i-Aktivitäten von

CEA-Präparaten entfernen konnten (76); allerdings schließen diese Befunde die Vorstufentheorie insofern nicht gänzlich aus, als die Umwandlung aller Vorstufenoligosaccharide in toto in die ABH-Determinanten blockiert sein kann.

Schließlich konnte nachgewiesen werden, daß die Struktur des CEA außerordentlich heterogen ist, ja offensichtlich sogar individuelle Unterschiede aufweist, so daß möglicherweise das CEA aus einer Gruppe von „Isoantigenen“ mit multiplen antigenen Determinanten besteht (77). Offensichtlich spielt das N-Acetylglucosamin als antigendeterminierender Zucker eine zentrale Rolle (78), allerdings nicht allein, da zwar Weizenkeimagglutinin – wie mit den Strukturen 1 und 3 in Abbildung 8 – auch mit dem CEA stark reagiert, aber seine Reaktion mit NN'-Diacetylchitobiose empfindlich gehemmt werden kann, während die CEA-Anti-CEA-Reaktion gegenüber NN'-Diacetylchitobiose relativ unempfindlich ist (72).

Darüberhinaus trägt das Gesamtmolekül offensichtlich noch andere antigenen Determinanten, da polyacrylamidgelelektrophoretisch reine Präparationen von CEA mit folgenden Lectinen unter dem Bilde der Präzipitation reagieren: mit den Anti-A-like Lectinen aus verschiedenen Schnecken (gegen terminale α -N-Acetylglaktosaminyl-Reste gerichtet), mit dem Lectin aus Erdnüssen (*Arachis hypogaea*), dem sog. Anti-TF-Lectin im Sinne von Thomsen & Friedenreich (Spezifität: Anti- β -Galaktosyl-(1–3)-N-Acetylglaktosaminyl-Serin/Threonin), dem Lectin aus dem Pilz *Agaricus bisporus* mit ähnlicher, aber nicht identischer Spezifität, sowie mit Tridacnin aus der Muschel *Tridacna maxima* (Anti- β -Galaktosyl-Spezifität) (79).

Thomsen-Friedenreich-Antigene und A-like Strukturen sind in den letzten Jahren bei Brustkrebs sowie bei Colon- und Magencarcinomen nachgewiesen worden (80–83). Es handelt sich um Kryptantigene, die erstmalig auf Erythrocyten entdeckt wurden, die alkali-labil an Proteinketten gebunden sind und die durch Neuraminidase-Behandlung freigelegt werden (80). Grundstruktur der Thomsen-Friedenreich-Antigene ist das oben erwähnte Disaccharid, welches sich mit Hilfe des Erdnuß-Lectins nachweisen läßt. Hieran können ein oder zwei Moleküle Neuraminsäure gebunden sein. Spaltet man nun außer der Neuraminsäure auch die D-Galaktose mit Hilfe einer β -Galaktosidase ab, so erhält man ein weiteres tumorzellcharakteristisches Antigen, das sog. A-like Antigen (aufgrund seiner Kreuzreaktion mit Blutgruppen A Antiseren bzw. Lectinen), d. h. α -glycosidisch an Serin oder Threonin gebundenes N-Acetyl-D-galaktosamin. Es kann auch durch Neuraminsäure blockiert sein und wurde an Erythrocyten zuerst aufgefunden. Besonders gut reagiert dieses Hexosamin mit Lectinen, die von Prokop und Mitarbeitern in der Eiweißdrüse von Schnecken entdeckt wurden (84, 85). Das Blutgruppen A-ähnliche Antigen erscheint auch bei experimentellen Tiertumoren (86). Nicht nur nach jüngsten Untersuchungen an T- und B-Lymphocyten, wo diese Rezeptoren Marker-Eigenschaften haben können, sondern auch bei der Diagnose und Verlaufskontrolle der chronisch-lymphatischen Leukämie kommt diesem A-ähnlichen Antigen eine ganz beträchtliche Bedeutung zu (87). In

¹) CEA = Carcinoembryonales Antigen

Form des Tn-Antigens (80) soll es in diesem Zusammenhang als präleukämisches Antigen eine Rolle spielen.

Die beiden vorgenannten Antigene kommen nicht nur auf Tumorzellen vor, sondern lassen sich auch auf Normalzellen durch Neuraminidaseeinwirkung freilegen, desgleichen auf verschiedenen löslichen Glycoproteinen. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß dadurch auf der Oberfläche der Zelle Strukturen entstehen, z. B. β -Galaktosido-Reste, welche dafür sorgen, daß die entsprechenden Zellen, falls sie ins Blut gelangen, von bestimmten anderen Organen, z. B. Lunge oder Leber, in spezifischer Weise abgefangen werden. Dabei spielen membranintegrierte Lectine eine Rolle (88, 89). Vielleicht kann man sich auf diese Art und Weise die Organotropie der Metastasierung bestimmter Tumoren erklären.

Als weiteres carcinofoetales Antigen kommt α -Fetoprotein in Frage, das in Fetalseren vorkommt, aber in Erwachsenenserum fast vollständig fehlt. In der 10.–22. Schwangerschaftswoche hat das Serum einen Fetuin-Spiegel bis zu 2 g/l, um dann bis zur Geburt auf weniger als 50 mg/l abzufallen (90). Fetuin spielt eine Rolle als Wachstumsfaktor bei vielen Säugetierzelllinien in der Gewebekultur (91) und ist bei einer Reihe von Neoplasmapatienten (z. B. Hepatome) erhöht (92).

Natürlich ist die molekulare Änderung der Oberfläche von Neoplasmazellen keineswegs auf Glycosubstanzen begrenzt: Tumoren eines Tieres werden von einem syngenen anderen Tier abgestoßen aufgrund des Vorhandenseins tumor-spezifischer Transplantationsantigene (29). In einem infizierten Tier werden die virusinfizierten Zellen heftig durch T-Lymphocyten angegriffen und zwar aufgrund eines Histokompatibilitätsantigens, das virusspezifisch modifiziert ist (93). Werden weiterhin Mäuse, die chemisch induzierte Sarkome tragen, mit *Vaccinia*-Viren infiziert, so weisen die Tumoren zusätzlich zu den für das Wirtstier typischen Haplotypen eine ganze Reihe anderer Gewebe-Antigen-Spezifitäten auf (94). Offensichtlich sind also die H-2 Antigene an der zellulär bedingten Lyse nicht nur allogener und xenogener Zellen, sondern darüberhinaus auch chemisch modifizierter und virusinfizierter syngener Zellen beteiligt, möglicherweise als Adaptoren, welche sich mit viralen Antigenen verbinden, um somit Antigen-Hybride zu bilden; wirtseigene T-Lymphocyten sollen ein Repertoire von Rezeptoren besitzen, die mit diesen kombinierten Antigenen reagieren können (95).

Bei viraler Ätiologie der malignen Degeneration können als Folge der Änderung körpereigener genetischer Information Zelloberflächenantigene virusinduziert oder virusmodifiziert sein (96); darüberhinaus können natürlich auch viruseigene Antigene als Folge körperfremder genetischer Information zur Expression kommen (96, 97).

Aber für alle diese Tumorantigene liegen bisher jedoch nur sehr wenige strukturelle Ergebnisse vor, so daß deren Abhandlung den gesteckten Rahmen dieser Arbeit sprengen würde; jedoch sei auf Arbeiten verwiesen, die sich mit ihrer serologisch-immunologischen Charakterisierung ausführlicher beschäftigen (96, 98–102).

Tumor-Immunität und Escape-Mechanismen

Sowohl humorale als auch zelluläre Elemente sind an der Immunantwort auf die tumorassoziierte Antigenität beteiligt. Die Konzentration tumoroberflächengebundener Immunglobuline steigt sich in tumortragenden Tieren mit der Zeit nach der Tumoriñokulation (103). Wichtiger aber ist wahrscheinlich die zelluläre Immunität

(104): cytotoxisch wirksame T-Lymphocyten proliferieren und bilden blastenähnliche Zellen, die durch direktes Interagieren mit den tumorassoziierten Oberflächenantigenen die Tumorzelle abtöten; antikörperabhängige Killer- oder K-Zellen haben F_c -Rezeptoren auf ihrer Oberfläche, die mit den an die Tumorzellen gebundenen IgG-Antikörpern reagieren; bestimmte Makrophagen können Tumorzellen mittels Makrophagen-Oberflächen-Immunglobulin oder mittels bestimmter cytophiler Faktoren abtöten, die nach Kontakt mit spezifischen, tumorassoziierten Antigenen von T-Lymphocyten hergestellt worden sind.

Offensichtlich besitzt die Tumorzelle eine Reihe von Abwehrmechanismen, um der Immunantwort oder Überwachung („surveillance“) des Wirtsorganismus' ent-rinnen („escape“) zu können (29): Da ist einmal die altbekannte Maskierung von Antigenen, die durch eine vermehrte Sialylierung von gleichen oder benachbarten Molekülen bedingt sein kann (50); ganze zusätzliche Oligosaccharidketten verhindern möglicherweise die Accessibilität von Antigenen (51), die ihrerseits noch durch erhöhte Oberflächenladung weiter verringert werden kann. Eine wesentlichere Rolle dürfte dabei jedoch die Antigen-Modulation spielen, die sich beispielsweise darin äußert, daß Tumorzellen nach Behandlung mit spezifischen Antisera allmählich unempfindlich (wahrscheinlich Ausleseprinzip) gegenüber Komplement werden und damit nicht mehr lysierbar sind. Zelloberflächentopographisch äußert sich die Modulation dadurch, daß die entsprechenden Antigene eine erhebliche und weitreichende Seitenbeweglichkeit erworben haben. Eine der Voraussetzungen zur Komplementlyse ist einerseits die Möglichkeit, auf der Zelloberfläche Antigen-Antikörper-Komplexe kleineren Ausmaßes (Büschel) bilden zu können, wobei wenigstens 2 IgG-Moleküle nahe nebeneinander sich durch molekulare Ausrichtung so anordnen können, daß die initiale Fixierung von Komplement-Komponenten stattfinden kann. Dies setzt ein begrenztes Ausmaß an Beweglichkeit der Zelloberflächenantigene voraus. Andererseits darf aber die Beweglichkeit von Oberflächenantigenen wiederum nicht so groß sein, daß sich nach Reaktion mit IgG gleich Ansammlungen großer Flecken (Scheckmuster) oder Kappen von Antigen-Antikörper-Komplexen bilden, die durch gegenseitige sterische Behinderung die nötige Ausrichtung der IgG-Moleküle vermeiden. Diese Überlegungen sind auch experimentell bestätigt worden insofern, als die Komplementlyse einerseits bei fixierten, monomolekulardispersen Oberflächenantigenen und andererseits bei Kappen- und (Groß)-Fleckenformation der Antigen-Antikörper-Komplexe ausbleibt, wohingegen die Maximalempfindlichkeit zur Lyse dann zu verzeichnen ist, wenn die Oberflächenantigen-Antikörper-Komplexe Büschel oder kleine Flecken bilden (105). Möglicherweise gilt dies auch für T- und K-Zell-Interaktionen. Die Tumorzellen können infolgedessen der Immunabwehr aufgrund einer geänderten Seitenbeweglichkeit der

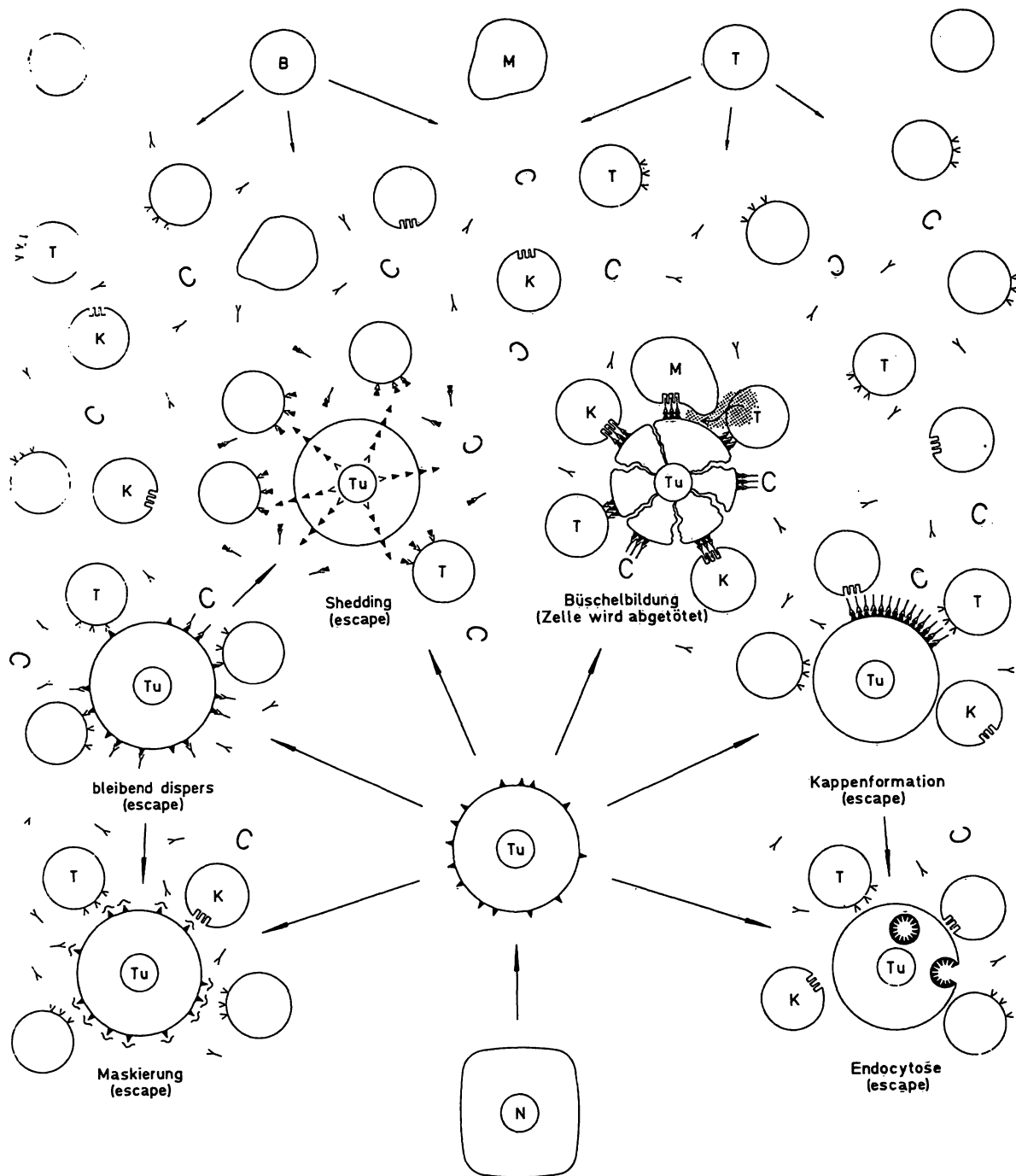


Abb. 9. Immunabwehr des Wirtsorganismus und Escape-Mechanismen der Tumorzellen. Nach carcinomatöser Degeneration der Normalzelle (N) zeigt die Tumorzelle (Tu) an ihrer Oberfläche Tumorantigene (A). Zusätzlich zur humoralen Abwehr durch Immunglobuline (—<) töten T-Lymphocyten-Abkömmlinge (T) nach direkter Interaktion mit den Tumorantigenen die Tumorzelle ab; Killer-Zellen (K) reagieren mit dem F_c -Fragment der an Tumorzellen gebundenen IgG-Antikörper, durch das auch Komplement (C) gebunden wird. Makrophagen (M) töten Tumorzellen nach Interaktion mittels Makrophagen-Oberflächen-Immunglobulin oder mittels cytophiler Faktoren ab, die von sensibilisierten T-Lymphocyten gebildet worden sind. Die Immunabwehr ist aber nur wirksam, wenn durch Reaktion mit einem polyvalenten Liganden (z. B. Antikörper oder Oberflächenrezeptoren von Zellen) **Büschelbildung** der Antigene bzw. Antigen-Liganden-Komplexe erreicht wird; nur die Kombination mehrerer benachbarter F_c -Fragmente bildet einen Komplementrezeptor; auch für K- und T-Zell-Interaktionen dürfte die Büschelanordnung wichtig sein. Um der Elimination zu entkommen (*to escape*, engl.) führt gesteigerte Seitenbeweglichkeit der Membranantigene nach Reaktion mit polyvalenten Liganden zur **Kappenformation** der Antigene bzw. Antigen-Liganden-Komplexe; die massive Anhäufung der Antigene bzw. Antigen-Liganden-Komplexe bedeutet eine gegenseitige sterische Hinderung an der Fixierung von Komplement oder möglicherweise auch von Abwehrzellen. Bei verringerter Seitenbeweglichkeit ist nach Reaktion mit einem polyvalenten Liganden die Anordnung der Antigene auf der Plasmamembran **bleibend dispers**, was ebenfalls ein Ausbleiben der lokal konzentrierten Mehrfachbrückenbildung zwischen Tumor- und Abwehrzellen bewirkt und nur einen lockeren, wahrscheinlich unwirksamen Zellkontakt gestattet; Komplement findet nicht die durch Kombination mehrerer IgG-Antikörper erforderliche Rezeptorkonfiguration. Permanentes Abschuppen von Antigenen (**Shedding**) blockiert Antikörper und Abwehrzellen. Durch **Maskierung** oder **Endocytose** von Antigenen kommt die Tumorzelle ebenfalls dem Angriff durch Abwehrzellen und Antikörper zuvor (in Anlehnung an l.c. (29, 102, 105, 106), aus Hanfland, noch unveröffentlicht).

zellmembrangebundenen Antigene entrinnen, die im einen Falle die disperse Verteilung der Antigene beläßt, im anderen Falle zu Kappenbildung führen kann.

An dieser Stelle sei an den transmembranösen Einfluß der cytoskeletalen Elemente auf die Beweglichkeit der Zelloberflächenkomponenten erinnert, der sich offensichtlich nach Transformation oder maligner Degeneration ändert (s. oben). In Analogie kann beispielsweise Colchicin durch selektive Zerstörung der Mikrotubuli zur Concanavalin A-induzierten Kappenbildung von Concanavalin A-Rezeptoren führen (s. oben).

Die Endocytose ist eine weitere Möglichkeit für die Tumorzelle, im Wirtsorganismus zu überleben. Sie ist ebenfalls ein transmembranöses, energiestoffwechselabhängiges Ereignis, das membranassoziierte kontraktile Elemente wie die Mikrofilamente erfordert (29). Endocytotisches Entfernen von Zelloberflächen-Antigen-Antikörper-Komplexen macht eine Zelle gegenüber einer Komplementlyse unempfindlich.

Der umgekehrte Vorgang, das Ausstülpfen und vesikelartige Abstoßen oder auch „Abschuppen“ („shedding“) von Plasmamembran-komponenten entfernt ebenfalls Komplementrezeptoren von der Oberfläche der Zelle und verhindert damit ebenfalls eine Cytolyse. Aber nicht nur ganze Antigen-Antikörper-Komplexe können auf diese Weise eliminiert werden, sondern auch einzelne Antigene oder Molekularkomplexe ohne Antikörper. Wie im einzelnen dieses „shedding“ vor sich geht, ist unbekannt. Immerhin konnte jedoch an einigen Tumorzellen durch Oberflächenproteasen und -glycosidasen eine enzymatische Hydrolyse (Autolyse) von Oberflächenkomponenten beobachtet werden (29). Auch hier zeigt sich wieder die mögliche große Bedeutung von Proteasen bei der malignen Degeneration. Bei der gesunden Zelle schaffen sie Verhältnisse, die denen der transformierten und malignen Zellen erheblich ähneln (Demaskierung, Antigenentfernung, Steigerung der Beweglichkeit von Oberflächenrezeptoren durch offenbar indirekten Einfluß auf die cytoskeletalen Elemente, s. o.). „Shedding“ wirkt aber auch noch durch einen anderen Mechanismus der Immunantwort entgegen: durch ständiges Abschuppen von Antigenen (ständige Proteasewirkung?) und Abgabe an das Blutplasma wird der Organismus mit Faktoren überschwemmt, die die spezifischen Antikörper und Immunzellen blockieren

(106), womit auf diese Weise Immuntoleranz erzeugt werden kann.

Die Effektorprinzipien und Escape-Mechanismen (letztere sind für die T- und K-Zellinteraktionen noch hypothetisch) sind noch einmal in Abb. 9 zusammengefaßt.

Ausblick

Als Konsequenz unserer Ausführungen lassen sich folgende, für die Tumordiagnostik und vielleicht auch -therapie wichtigen Maßnahmen ableiten:

1. das diagnostische Spektrum in Bezug auf die Immunhistologie und Immunpathologie wird erheblich erweitert durch markierte Anti-Tumorzell-Lectine und markierte Antiseren, wie beispielsweise Anti-T aus *Arachis hypogaea*, Anti-Tn oder Anti-A verschiedener Herkunft oder Tridacnine. Positive Reaktionen würden den Verdacht eines Tumors schnell erhärten können.
2. Zu der Serumbestimmung von CEA würde sich auch noch die Bestimmung des Anti-T Titers gesellen. Dieser weist in der Tat deutliche Veränderungen bei T-Antigen tragenden Tumoren auf und wäre eine wertvolle diagnostische Ergänzung (83).
3. Desgleichen kann man mit gereinigtem T-Antigen Hauttests durchführen, wodurch die zelluläre Immunreaktion gegen dieses Antigen in spezifischer Weise festgestellt werden kann (83). Darüberhinaus kann mit diesem Antigen noch die Stimulation von Immun-Anti-T bewirkt werden, wodurch zugleich ein therapeutischer Effekt erzielt wird (83).
4. Es ist bemerkenswert, daß man eine spezifische Immuntherapie durch Immunisierung mit Neuraminidase-behandelten Zellen, hochgereinigten Zellmembranfraktionen oder mit halbsynthetischen, kohlenhydratgruppenhaltigen Antigenen, welche ein tumorzellcharakteristisches Rezeptorprofil haben, in Erwägung zieht. Dies ist vor allem bei Leukämie-Formen diskutiert und auch durchgeführt worden (107, 108).

Diese Ausführungen mögen zeigen, daß die Grundlagenforschung trotz ihrer Unabhängigkeit und scheinbaren Irrelevanz letztlich doch zu klinisch relevanten Fakten und Konsequenzen führt. Das gilt besonders für den in sich schon multidisziplinären Bereich immunologischer und biochemischer Tumorforschung.

Literatur

1. Singer, S. J. & Nicolson, G. L. (1972), *Science* **175**, 720–731.
2. Singer, S. J. (1974), *Adv. Immunol.* **19**, 1–66.
3. Steck, T. L. (1974), *J. Cell. Biol.* **62**, 1–19.
4. Yu, J. & Steck, T. L. (1975), *J. Biol. Chem.* **250**, 9170–9715.
5. Segrest, J. P., Kahane, I., Jackson, R. L. & Marchesi, V. T. (1973), *Arch. Biochem. Biophys.* **155**, 167–183.
6. Bretscher, M. S. (1973), *Science* **181**, 622–629.
7. Gahmberg, C. G. & Hakomori, S.-I. (1973), *J. Biol. Chem.* **248**, 4311–4317.
8. Steck, T. L. & Dawson, G. (1974), *J. Biol. Chem.* **249**, 2135–2142.
9. Uhlenbruck, G. (1971), *Immunbiologie, Eine Einführung*, Wilh. Goldmann Verlag München.
10. Lis, H. & Sharon, N. in: *The Antigens* (Sela, M. ed.) Vol. 4, Academic Press, New York, San Francisco, London (im Druck).

11. Capaldi, R. A. (1974), *Scientific American* 2, 27–33.
12. Guidotti, G. (1972), *Ann. Rev. Biochem.* 41, 731–752.
13. Ji, T. H. (1974), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 93–95.
14. Kirkpatrick, F. H. (1976), *Life Sciences* 19, 1–18.
15. Wang, K. & Richards, F. M. (1974), *J. Biol. Chem.* 249, 8005–8018.
16. Ji, T. H. & Nicolson, G. L. (1974), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 2212–2216.
17. Nicolson, G. L. & Painter, R. G. (1973), *J. Cell Biol.* 59, 395–406.
18. Ji, T. H. (1974), *J. Biol. Chem.* 249, 7841–7847.
19. Gahmberg, C. G., Myllylä, G., Leikula, J. & Pirkola, A. (1976), *J. Biol. Chem.* 251, 6108–6116.
20. Uhlenbruck, G., Wintzer, G. & Wersdörfer, R. (1967), *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 6, 281–324.
21. Uhlenbruck, G. (1961), *Nature* 190, 181.
22. Nicolson, G. L. (1972), *Nature* 239, 193–197.
23. Nicolson, G. L. (1973), *J. Cell Biol.* 57, 373–387.
24. Elgsaeter, A. & Branton, D. (1974), *J. Cell Biol.* 63, 1018–1030.
25. Nicolson, G. L. (1976), *Biochim. Biophys. Acta* 457, 57–108.
26. Burger, M. M. (1969), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 62, 994–1001.
27. Burger, M. M. (1973), *Fed. Proc.* 32, 91–101.
28. Sachs, L. (1974), *The Harvey Lectures* 68, 1–35.
29. Nicolson, G. L. (1976), *Biochim. Biophys. Acta* 458, 1–72.
30. Ben-Bassat, H., Inbar, M. & Sachs, L. (1971), *J. Membrane Biol.* 6, 183–194.
31. Inbar, M., Huet, C., Oseroff, A. R., Ben-Bassat, H. & Sachs, L. (1973), *Biochim. Biophys. Acta* 311, 594–599.
32. Gunther, G. R., Wang, J. L., Yahara, I., Cunningham, B. A. & Edelman, G. M. (1973), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 70, 1012–1016.
33. Comoglio, P. M. & Guglielmoni, R. (1972), *FEBS Letters* 27, 256–258.
34. Weiss, L. & Subjeck, J. R. (1974), *J. Cell Sci.* 14, 215–233.
35. Hsie, A. W., Jones, C. & Puck, T. T. (1971), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 68, 1648–1652.
36. Nicolson, G. L., Lacorbieri, M. & Eckhardt, W. (1975), *Biochemistry* 14, 172–179.
37. Chatterjee, S., Velicer, L. F. & Sweeley, C. C. (1975), *J. Biol. Chem.* 250, 4972–4979.
38. Fox, T., Sheppard, J. & Burger, M. M. (1971), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 68, 244–247.
39. Chatterjee, S., Sweeley, C. C. & Velicer, L. F. (1973), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54, 585–592.
40. Gahmberg, G. G. & Hakomori, S.-I. (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 59, 283–291.
41. Hakomori, S.-I., Teather, C. & Andrews, H. (1968), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 33, 563–568.
42. Makita, A. & Seyama, Y. (1971), *Biochim. Biophys. Acta* 241, 403–411.
43. Mannino, R. J. & Burger, M. M. (1975), *Nature New Biol.* 256, 19–22.
44. Hakomori, S.-I. (1975), *Biochim. Biophys. Acta* 417, 55–89.
45. Brady, R. O. & Fishman, P. H. (1974), *Biochim. Biophys. Acta* 355, 121–148.
46. Kijimoto, S. & Hakomori, S. (1971), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 44, 557–563.
47. Laine, R. A. & Hakomori, S.-I. (1973), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54, 1039–1045.
48. Roseman, S. (1971), *Chem. Phys. Lipids* 5, 270–300.
49. Yogeeswaran, G., Laine, R. A. & Hakomori, S.-I. (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 49, 591–599.
50. Warren, L., Fuhrer & Buck, C. A. (1973), *Fed. Proc.* 32, 80–85.
51. Ogata, S.-I., Muramatsu, T. & Kobata, A. (1976), *Nature* 259, 580–582.
52. Meezan, E., Wu, H. C., Black, P. H. & Robbins, P. W. (1969), *Biochemistry* 8, 2518–2524.
53. Hynes, R. O. (1976), *Biochim. Biophys. Acta* 458, 73–107.
54. Gahmberg, G. G. & Hakomori, S.-I. (1975), *J. Biol. Chem.* 250, 2447–2451.
55. Prokop, O. & Uhlenbruck, G. (1975), *Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen*, Edition Leipzig, Leipzig.
56. Hakomori, S.-I. & Kobata, A. (1974) in: *The Antigens* (Sela, M. ed.) Vol. 2, Academic Press, New York, San Francisco, London.
57. Watanabe, K., Laine, R. A. & Hakomori, S.-I. (1975), *Biochemistry* 14, 2725–2733.
58. Koscielak, J., Piasek, A., Gorniak, H., Gardas, A. & Gregor, A. (1973), *Europ. J. Biochem.* 37, 214–225.
59. Hanfland, P. & Egli, H. (1975), *Vox Sang.* 28, 438–452.
60. Hanfland, P. (1975), *Chem. Phys. Lipids* 15, 105–124.
61. Hanfland, P. & Egge, H. (1975), *Chem. Phys. Lipids* 15, 243–247.
62. Hanfland, P. & Assmann, G. (1976), *Z. Anal. Chem.* 279, 172.
63. Davidsohn, I. (1972), *Amer. J. Clin. Pathol.* 57, 715–722.
64. Denk, H., Tappeiner, G. & Holzner, J. H. (1974), *Nature* 248, 428–429.
65. Hakomori, S.-I., Koscielak, J., Bloch, K. J. & Jeanloz, R. (1967), *J. Immunol.* 98, 31–38.
66. Watanabe, K. & Hakomori, S.-I. (1976) *J. Exp. Med.* 144, 644–653.
67. Itaya, K., Hakomori, S.-I. & Klein, G. (1976), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 73, 1568–1571.
68. Uhlenbruck, G. & Gielen, W. (1969), *Die Med. Welt* 20, 332–335.
69. Hakomori, S.-I. (1969), *Vox Sang.* 16, 478–485.
70. Gold, P. & Friedman, S. O. (1965), *J. Exp. Med.* 122, 467–481.
71. Terry, W. D., Henkart, P. A., Coligan, J. E. & Todd, C. W. (1972), *J. Exp. Med.* 136, 200–204.
72. Watanabe, K. & Hakomori, S.-I. (1973), *FEBS Letters* 37, 317–320.
73. Simmons, D. A. R. & Perlmann, P. (1973), *Cancer Res.* 33, 807–813.
74. Andreu, G., Chavanel, G. & Burtin, P. (1975), *Immunochimistry* 12, 921–924.
75. Holburn, A. M., Mach, J.-P., MacDonald, D. & Newlands, M. (1974), *Immunology* 26, 831–843.
76. Cooper, A. G., Brown, M. C., Kirch, M. E. & Rule, A. H. (1974), *J. Immunol.* 113, 1246–1251.
77. Vrba, R., Alpert, E. & Isselbacher, K. (1975), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72, 4602–4606.
78. Banjo, C., Gold, P., Freedman, S. O. & Krupay, J. (1973), *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)* 124 C, 575–577.
79. Wintzer, G., Uhlenbruck, G. (unveröffentlicht).
80. Uhlenbruck, G., Dahr, W., Rothe, A. & Baldo, B. A. (1974), *Forschungsbericht NRW Nr. 2475*, Westdeutscher Verlag Opladen.
81. Springer, G. F., Desai, P. R. & Banatwala, I. (1975), *J. Nat. Cancer Inst.* 54, 335–339.
82. Springer, G. F. (1975), in: *Immunologie und Gesellschaft*, Med. Verl. Ges. Marburg, 277–291.
83. Springer, G. F. & Desai, P. R. (1977), *Transplantation Proc.* 9, 1105–1111.
84. Prokop, O., Uhlenbruck, G. & Köhler, W. (1968), *Vox Sang.* 14, 321–333.
85. Prokop, O. & Uhlenbruck, G. (1969), *Med. Welt* 20, 2515–2519.
86. Prokop, O., Rothe, A. & Uhlenbruck, G. (1975), in: *Applied Tumor Immunology* (Götz, H. & Bücherl, S. eds.) Walter de Gruyter, Berlin–New York, 173–183.
87. Hellström, U., Mellstedt, H., Perlmann, P., Holm, G. & Pettersson, D. (1976), *Clin. Exp. Immunol.* 26, 196–203.
88. Ashwell, G. & Morell, A. G. (1977), *Trends Biol. Sci.* (im Druck).
89. Aminoff, D., Bruegge, W. F. V., Bell, W. C., Sarpolis, K. & Williams, R. (1977), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 74, 1521–1524.
90. Gitlin, D. & Boesman, M. (1966), *J. Clin. Invest.* 45, 1826–1832.
91. Puck, T. T., Waldren, C. A. & Jones, C. (1968), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 59, 192–196.
92. Abelev, G. I. (1974), *Transplant. Rev.* 20, 3–37.
93. Lennox, E. (1975), *Nature* 256, 7–8.
94. Garrido, G., Schirmacher, V. & Festenstein, H. (1976), *Nature* 259, 228–229.
95. Schrader, J. W., Cunningham, B. A. & Edelman, G. M. (1975), *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72, 5066–5070.

96. Hearsh, E. (Ed.) (1975), *Immunological Aspects of Neoplasia*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 149–167.
97. Khera, K. S., Ashkenazi, A., Rapp, F. & Melnick, J. L. (1963), *J. Immunol.* **91**, 604–613.
98. Hebermann, R. B. (1974), *Adv. Cancer Res.* **19**, 207–263.
99. Bauer, H. (1974), *Adv. Cancer Res.* **20**, 275–341.
100. Yoshiki, T., Mellors, R. C., Hardy, W. D. Jr. & Fleissman, E. (1974), *J. Exp. Med.* **139**, 925–942.
101. Warnatz, H. (1975), *Tumorimmunologie*, G. Thieme, Stuttgart.
102. Saal, J. G. (1977), *Z. Allgemeinmedizin* **16**, 885–897.
103. Witz, I. P., Kinamon, S., Ran, M. & Klein, G. (1974), *Clin. Exp. Immunol.* **16**, 321–333.
104. Cerottini, J.-C. & Brunner, K. T. (1974), *Adv. Immunol.* **18**, 67–132.
105. Sundqvist, K. G., Svehag, S. E. & Thorstensson, R. T. (1974), *Scand. J. Immunol.* **3**, 237–250.
106. Kahan, B. D. (1974), *Adv. Exp. Med. Biol.* **51**, 163–241.
107. Holland, J. F. & Bekesi, J. G. (1976), *Med. Clin. North Am.* **60**, 539–549.
108. Sedlacek, H. H., Seiler, F. R. & Schwick, H. G. (1977), *Klin. Wochenschr.* **55**, 199–214.

Dr. Peter Hanfland
Institut für Experimentelle Hämatologie
und Bluttransfusionswesen der Univ. Bonn
Annaberger Weg
5300 Bonn 18

